

INFORMACION

La lipoxigenasa en el reino vegetal. II. Funciones fisiológicas asignadas

Por L.C. Sanz, A.G. Pérez y J.M. Olías*

Instituto de la Grasa y sus Derivados
Avda. Padre García Tejero, 4. 41012-Sevilla, España.

RESUMEN

La lipoxigenasa en el reino vegetal. II. Funciones fisiológicas asignadas

A pesar del elevado número de publicaciones que existe sobre lipoxigenasa, muy poca información se puede extraer respecto al papel fisiológico de la lipoxigenasa en el reino vegetal. Existen principalmente tres grandes áreas de la fisiología vegetal donde la lipoxigenasa ha sido implicada: 1) crecimiento y desarrollo, 2) senescencia, y 3) respuesta a daño y resistencia a plagas. Esta parte trata de recoger los datos obtenidos en las áreas de investigación que más probablemente puedan permitir elucidar el papel de la lipoxigenasa en plantas superiores.

PALABRAS-CLAVE: Funciones fisiológicas - Información (artículo) - Lipoxigenasa (ruta) - Peroxidación lipídica.

SUMMARY

Lipoxygenase in the plant kingdom. II. Physiological functions proposed.

In spite of the large number of publications about lipoxygenase, little definitive information is available concerning physiological roles for plant lipoxygenase. There are three major areas of plant physiology where lipoxygenase has been mainly implicated: 1) growth and development, 2) senescence, and 3) wound response and pest resistance. This section summarizes results from the areas of investigation which are most likely to elucidate the role of lipoxygenase in higher plants.

KEY-WORDS: Information (paper) - Lipid peroxidation - Lipoxygenase (pathway) - Physiological functions.

1. INTRODUCCION

Los productos resultantes de la reacción enzimática de lipoxigenasa (LOX) con los ácidos grasos poliinsaturados, los hidroperóxidos, son unos compuestos que tienen una alta tendencia a la formación de radicales libres, mostrándose éstos altamente reactivos. Estos radicales dañan la estructura de la membrana, reaccionando asimismo con proteínas, aminoácidos (Gardner, 1979) e incluso ADN por reacción con guanina (Inouye, 1984). Pero el destino probable de los hidroperóxidos es la conversión en otros metabolitos por alguna de las rutas enzimáticas englobadas en lo que se conoce genéricamente como ruta de la LOX (Figura 1). Cada uno de los enzimas implicados en dicha ruta, así como los metabolitos a que dan lugar, han sido recogidos en un reciente compendio de la bibliografía por Zamora et al., (1991).

A pesar de la gran cantidad de información que existe concerniente al estudio de LOX, pocas conclusiones se pueden extraer sobre su posible papel fisiológico en plantas. Por el contrario, los productos de oxidación del ácido araquidónico mediante la ruta de LOX en animales, conocidos como eicosanoides y que incluye a prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos, tienen un demostrado papel fisiológico de gran importancia como reguladores del metabolismo en mamíferos (Samuelsson et al., 1987; Schewe et al., 1986; Needleman et al., 1986;

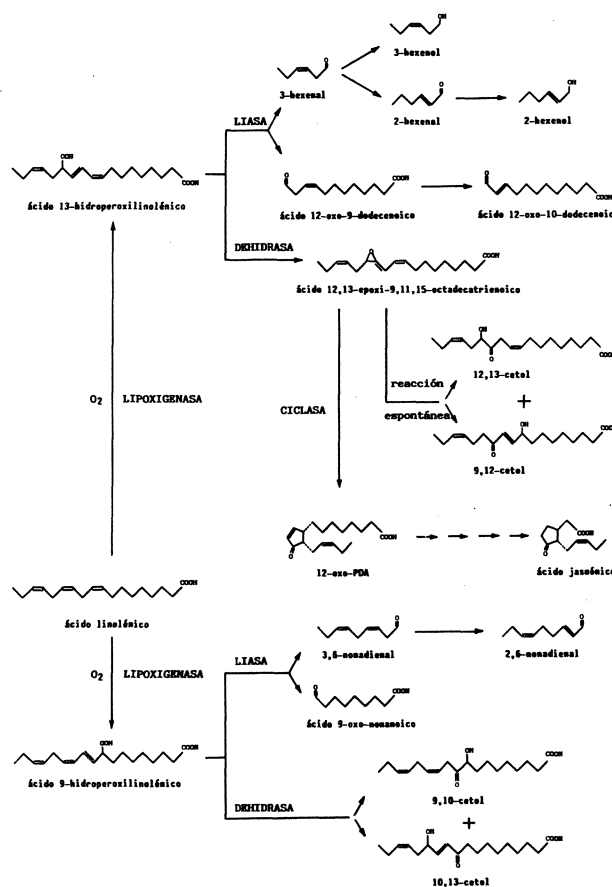


Figura 1
Ruta de la lipoxigenasa (LOX) en plantas para el ácido linoléico

Anderson, 1989). La causa principal de este hecho radica en la ausencia de bioensayos suficientemente satisfactorios que aporten datos concluyentes de la función fisiológica de los octadecanoides (productos de la cascada de los ácidos linoleico y linolénico) en plantas.

Existen tres áreas de la fisiología vegetal donde LOX parece estar implicada: crecimiento y desarrollo, senescencia, y respuesta a daño del tejido vegetal o resistencia a plagas. En cualquiera de estas tres grandes áreas es posible encuadrar el posible papel fisiológico de cada uno de los metabolitos de la ruta de la LOX. Sin embargo, la discusión que se puede plantear al respecto está basada desgraciadamente más en la especulación que en la evidencia experimental.

2. HIDROPEROXIDOS

Biosíntesis de etileno, senescencia y regulación enzimática, son tres aspectos de la fisiología vegetal en los que se especula pueden estar involucrados los hidroperóxidos de los ácidos grasos procedentes de la acción de la LOX. La biosíntesis de etileno se puede clasificar en dos categorías, de una parte estaría la biosíntesis normal o biológica, que se da en ciertas etapas del desarrollo de la planta, y de otra la biosíntesis de etileno en respuesta a un estrés físico, químico o biológico de la planta (Yang y Hoffman, 1984). La ruta biosintética de etileno partiendo de S-adenosilmetionina es bien conocida excepto en lo que se refiere al paso final que convierte el ácido 1-aminociclopropano - 1-carboxílico (ACC) en etileno. Existe un acuerdo casi unánime sobre la necesidad de oxígeno y la participación de radicales libres en esta conversión, y debido a esto se ha sugerido la participación de LOX en este proceso. Algunos autores han demostrado que LOX está involucrada en la producción *in vitro* de etileno bien de forma directa o indirecta (Lynch y Thompson, 1984; Kacperska y Kubacka-Zebalska, 1985); pero otras experiencias indican que las propiedades de los sistemas *in vitro* no se corresponden con las propiedades de los sistemas *in vivo* (Lynch et al., 1985). Las conclusiones que se extraen, de las experiencias llevadas a cabo hasta ahora, sugieren la no participación de LOX en la biosíntesis de etileno *in vivo* por la ruta normal (Kende, 1989), no excluyéndose el que estuviera involucrada en la producción de etileno de estrés.

La senescencia vegetal fue el primer área de investigación donde LOX ha sido implicada. Pauls y Thompson (1984) describen el proceso senescente como el resultado de un incremento en la concentración de productos procedentes de la peroxidación lipídica en membranas celulares, lo cual les hace adquirir una mayor rigidez, haciéndose más permeables y llegando incluso a la desintegración entre otras características (Mack et al., 1987; Hildebrand et al., 1988). En hojas de guisante, la actividad LOX se ve incrementada durante el proceso senescente, y ésta puede ser retardada por tratamiento de las hojas con inhibidores de LOX (Leshem et al., 1979). De igual forma, el aumento de la actividad LOX es una característica común en flores senescentes (Peary y Prin-

ce, 1990). Sin embargo, se han observado evidencias que no son consistentes con un papel de LOX en la senescencia. Por ejemplo, se ha demostrado un descenso de la actividad LOX en trigo y centeno senescentes (Kar y Feirabend, 1984). En realidad, se observa una alta actividad LOX en tejidos que están creciendo rápidamente como las semillas en germinación. En este caso, los hidroperóxidos formados podrían degradar las membranas de las células de almacén de los cotiledones para facilitar la provisión de nutrientes al nuevo tejido que se está desarrollando, o bien podrían ser metabolizados por otros enzimas como hidroperóxido liasa, isomerasa o dehidrasa que tienen también una alta actividad durante la germinación (Vick y Zimmerman, 1987).

Los hidroperóxidos son productos altamente reactivos con los grupos sulfhidrilo de las proteínas, debido a esto, también se sugiere un papel regulador de la actividad enzimática para LOX (Douillard, 1981), proponiéndose a los hidroperóxidos como posibles reguladores de la actividad de algunos enzimas del ciclo de Calvin en el cloroplasto.

3. ALDEHIDOS Y ω -OXOACIDOS

Los aldehídos y ω -oxoácidos son los productos resultantes de la lisis de los hidroperóxidos por acción del enzima hidroperóxido liasa. El ácido 12-oxo-*E*-10-dodecenoico tiene el mismo efecto que la herida vegetal, ya que estimula la formación del callo en el tejido, por lo que se le propone como el componente activo de la hormona de cicatrización, también llamada traumatina (Zimmerman y Coudron, 1979). El ácido traumático (ácido *E*-2-dodecendioico) fue propuesto originalmente como el componente activo de la traumatina, pero posteriormente se comprobó que no era más que un producto de oxidación del oxoácido durante su purificación. La hidroperóxido liasa aislada de la mayoría de las especies muestra una preferencia por el isómero 13-hidroperóxido, encontrándose también algunos ejemplos de enzimas con preferencia sobre 9-hidroperóxidos, pero hasta ahora, no se ha encontrado todavía una actividad fisiológica donde estuvieran implicados los ácidos 9-oxo-nonanoicos que resultan de la lisis enzimática de los 9-hidroperóxidos de los ácidos linoleico y linolénico.

Los aldehídos producidos por la hidroperóxido liasa pueden ser reducidos a los correspondientes alcoholes en algunos vegetales. Estos productos con función aldehído y alcohol son componentes habituales del sabor y olor de hojas y frutos (Hamilton-Kemp y Andersen, 1986; Kumar y Motto, 1986; Berger et al., 1987). El papel fisiológico de los aldehídos también es bastante enigmático. Sin embargo, se sabe que los aldehídos α , β -insaturados presentan una alta toxicidad debido a la gran reactividad de la función enal con grupos sulfhidrilo, amino e hidroxilo a través de reacciones de adición o formación de bases de Schiff. Es por ello, por lo que se ha sugerido que los aldehídos podrían participar en un mecanismo de defensa de la planta, confirmandose por las propiedades antifúngicas y bactericidas demostradas por *E*-2-hexenal

(Urbash, 1984). Otra evidencia que involucra a LOX en mecanismos de defensa de las plantas se ha observado en la patata, donde se ha demostrado que el verdadero promotor de la acumulación de fitoalexinas es un carbohidrato que requiere la presencia de un metabolito procedente del ácido araquidónico por acción de la LOX (Zook y Kuc, 1987). Hoy día se discute si el incremento en actividad LOX al producirse un daño físico puede ser inducido por el patógeno o por un compuesto promotor, de forma que la inducción de la LOX no sea más que una respuesta general del mecanismo de defensa de la planta, y no el resultado del daño del tejido en sí mismo (Fournier et al., 1986; Peever y Higgins, 1989; Dixon y Lamb, 1990). Otro posible papel fisiológico de los aldehídos en el reino vegetal podría ser la regulación de rutas metabólicas vía la inhibición de enzimas que contengan grupos sulfhidrilos esenciales para la catálisis enzimática.

4. CETOLES

La acción de la hidropéroxido dehidrasa sobre los hidropéroxidos produce un óxido de aleno. Este, mediante una reacción espontánea da lugar a unos productos denominados genéricamente como cetoles. Los α y γ cetoles parecen ser productos finales de su ruta biosintética según las evidencias experimentales que se tiene hasta ahora, ya que no se ha encontrado ruta metabólica que los transforme en otros productos (Vick y Zimmerman, 1987). Se ha comprobado que sus concentraciones no cambian tan dramáticamente como lo hace la actividad de los enzimas que los sintetizan, LOX e hidropéroxido dehidrasa. Esto podría ser debido a una compartimentación que separa enzimas y sustratos, compartimentación que es perdida en la maceración de tejidos, lo que provoca un incremento de la concentración de α -cetol como han demostrado Vick y Zimmerman (1982). Los cetoles podrían de esta forma estar involucrados en un mecanismo de protección de la planta contra un exceso tóxico de hidropéroxidos, los cuales serían convertidos en los teóricamente inócuos cetoles. Por el contrario, se han propuesto también a los cetoles como integrantes de un proceso regulador de la actividad enzimática dada su reactividad con grupos sulfhidrido (Vick y Zimmerman, 1987), demostrada en reacciones con glutatión que podrían estar catalizadas enzimáticamente.

5. 12-OXO-PDA Y ACIDO JASMONICO

La ciclación del ácido 13-hidropéroxilinolénico por un proceso enzimático que incluye a la hidropéroxido dehidrasa y a la óxido de aleno ciclasa, da lugar al ácido 12-oxo-fitodienoico (12-oxo-PDA). La estructura ciclopentenona del 12-oxo-PDA es similar a la que tiene la prostaglandina A₁ de animales. Se especula con un papel regulador del 12-oxo-PDA en el metabolismo vegetal de igual forma que las prostaglandinas tienen una poderosa actividad en animales. Aunque 12-oxo-PDA pueda tener una actividad fisiológica por sí mismo, es más probable

que su papel real en el metabolismo vegetal sea el de servir como precursor para la síntesis del ácido jasmónico, mediante la actuación de una reductasa y tres pasos de β -oxidación (Vick y Zimmerman, 1986). El ácido jasmónico y su éster metílico han sido detectados en gran número de especies vegetales, experimentándose un gran interés investigador en los últimos años debido a su demostrado efecto inhibitor del crecimiento y promotor de senescencia vegetal (Ueda y Kato, 1980, 1981, 1982; Satler y Thimann, 1981; Dathe et al., 1981; Yamane et al., 1982; Tsurumi y Asahi, 1985). La biosíntesis del ácido jasmónico puede ser probablemente el mejor ejemplo que se pueda obtener de la función metabólica de LOX vegetal. Algunos autores sugieren que el ácido jasmónico es una hormona vegetal que no había sido descrita con anterioridad. La mayor parte de la bibliografía concerniente al ácido jasmónico lo involucra en la inhibición del crecimiento y aparición del síndrome de senescencia, pero también es normal encontrarlo en tejidos vegetales que están creciendo activamente (Meyer et al., 1984). Por lo tanto, el ácido jasmónico ha de tener alguna función fisiológica en otras fases del desarrollo que aún no han sido descubiertas. Los últimos trabajos sugieren que el ácido jasmónico puede actuar interfiriendo con la manera en que otros conocidos reguladores del crecimiento vegetal estimulan la actividad celular, mediante la síntesis de glicopéptidos específicos (Anderson, 1988), aunque se discute también la posibilidad de que estos polipéptidos no sean más que proteínas de reserva sintetizadas por inducción directa del ácido jasmónico (Anderson, 1991). Hasta ahora, tanto ácido jasmónico como jasmonato de metilo han sido considerados como el mismo regulador del crecimiento, pero dado que el segundo es volátil a temperatura ambiente, es posible que éste actúe como una hormona gaseosa al igual que el etileno. Por su parte, el ácido jasmónico podría representar a un mensajero de larga distancia, dado que se han encontrado evidencias que apuntan a la posibilidad de que éste sea transportado en el floema (Anderson, 1985).

6. PIGMENTOS OXIDADOS

Aunque las evidencias apuntan a que el ácido abscísico es sintetizado por la ruta biosintética isoprenoide a partir del ácido mevalónico, es posible que una ruta alternativa sea operativa en plantas superiores e involucre a LOX (Parry y Horgan, 1991). En una reacción de cooxidación con ácido linoleico y catalizada por LOX, la violaxantina es lisada para dar xantoxina (Firm y Friend, 1972), la cual es un precursor del ácido abscísico como se ha demostrado en algunas especies vegetales (Taylor y Burden, 1973).

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, J.M. (1985).— "Evidence for phloem transport of jasmonic acid".— *Plant Physiol.* **77S**, 75.
 Anderson, J.M. (1988).— "Jasmonic acid-dependent increase in the level of specific polypeptides in soybean suspension cultures and seedlings".— *J. Plant Growth Regul.* **7**, 203-211.

- Anderson, J.M. (1989).— "Membrane-Derived Fatty Acids as Precursors to Second Messengers" en "Second Messengers in Plant Growth and Development", pp. 181-212.— W.F. Boss y D.J. Morre (Eds.).— Alan R. Liss Inc., New York.
- Anderson, J.M. (1991).— "Jasmonic acid-dependent increase in vegetative storage protein in soybean tissue cultures".— *J. Plant Growth Regul.* **10**, 5-10.
- Berger, R.G.; Kler, A. y Drawert, F. (1987).— "C₆-Aldehyde formation from linolenic acid in fruit cells cultured *in vitro*".— *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* **8**, 147-151.
- Dathe, W.; Ronsch, H.; Preiss, A.; Schade, W.; Sembdner, G. y Schreiber, K. (1981).— "Endogenous plant hormones of the broad bean *Vicia faba* L. (-)-jasmonic acid, a plant growth inhibitor in the pericarp".— *Planta* **153**, 530-535.
- Dixon, R.A. y Lamb, C.J. (1990).— "Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens".— *Ann. Rev. Plant Mol. Biol.* **41**, 339-367.
- Douillard, R. (1981).— "Hypothèses sur la localisation et le rôle des lipoxigenases des cellules végétales".— *Physiol. Vég.* **19**, 533-542.
- Firn, R.D. y Friend, J. (1972).— "Enzymatic production of the plant growth inhibitor xanthoxin".— *Planta* **103**, 263-266.
- Fournier, J.; Pelissier, B. y Esquerre-Tugaye, M.T. (1986).— "Induction d'une activité lipoxigenase dans les cellules de tabac (*Nicotiana tabacum*) en culture par des éliciteurs d'éthylène de *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*".— *C.R. Acad. Sci. Paris* **303**, 651-654.
- Gardner, H.W. (1979).— "Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids".— *J. Agric. Food Chem.* **27**, 220-229.
- Hildebrand, D.F.; Hamilton-Kemp, T.R.; Legg, C.S. y Bookjans, G. (1988).— "Plant lipoxigenases: occurrence, properties and possible functions".— *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol* **7**, 201-219.
- Hamilton-Kemp, T.R. y Anderson, R.A. (1986).— "Volatiles from winter wheat: Identification of additional compounds and effects of tissue source".— *Phytochemistry* **25**, 241-243.
- Inouye, S. (1984).— "Site-specific cleavage of double-strand DNA by hydroperoxide of linoleic acid".— *FEBS Lett.* **172**, 231-234.
- Kacperska, A. y Kubacka-Zebalska, M. (1985).— "Is lipoxigenase involved in the formation of ethylene from ACC?".— *Physiol. Plant.* **64**, 333-338.
- Kar, M. y Feierabend, J. (1984).— "Metabolism of activated oxygen in detached wheat and rye leaves and its relevance to the initiation of senescence".— *Planta* **160**, 385-391.
- Kende, H. (1989).— "The enzymes of ethylene biosynthesis".— *Plant Physiol.* **91**, 1-4.
- Kumar, N. y Motto, M.G. (1986).— "Volatile constituents of peony flowers".— *Phytochemistry* **25**, 250-253.
- Leshem, Y.Y.; Grossman, S.; Frimer, A. y Ziv, J. (1979).— "Endogenous Lipoxigenase: Control and Lipid-associated Free Radical Scavenging as Modes of Cytokinin Action in Plant Senescence Retardation" en "Advances in the Biochemistry and Physiology of Plant Lipids", pp. 193-198.— A. Appelqvist, C. Liljenberg (Eds.).— Biomedical Press, Amsterdam.
- Lynch, D.V.; Sridhara, S. y Thompson, J.E. (1985).— "Lipoxigenase-generated hydroperoxides account for the non-physiological features of ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by microsomal membranes of carnations".— *Planta* **164**, 121-125.
- Lynch, D.V. y Thompson, J.E. (1984).— "Lipoxigenase-mediated production of superoxide anion in senescing plant tissue".— *FEBS Lett.* **173**, 251-254.
- Mack, A.J.; Peterman, T.K. y Siedow, J.N. (1987).— "Lipoxigenase isozymes in higher plants: biochemical properties and physiological role".— *Isozymes: Curr. Top. Biol. Med. Res.* **13**, 127-154.
- Meyer, A.; Miersch, O.; Büttner, C.; Dathe, W. y Sembdner, G. (1984).— "Occurrence of the plant growth regulator jasmonic acid in plants".— *J. Plant Growth Regul.* **3**, 1-8.
- Needleman, P.; Turk, J.; Jakschik, B.A.; Morrison, A.R. y Lefkowitz, J.B. (1986).— "Araquidonic acid metabolism".— *Ann. Rev. Biochem.* **55**, 69-102.
- Parry, A.D. y Horgan, R. (1991).— "Carotenoids and abscisic acid (ABA) biosynthesis in higher plants".— *Physiol. Plant.* **82**, 320-326.
- Pauls, K.P. y Thompson, J.E. (1984).— "Evidence for the accumulation of peroxidized lipid in membranes of senescing cotyledons".— *Plant Physiol.* **75**, 1152-1157.
- Peary, J.S. y Prince, T.A. (1990).— "Floral lipoxigenase: activity during senescence and inhibition by phenidone".— *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **115**, 445-457.
- Peever, T.L. y Higgins, V.J. (1989).— "Electrolyte leakage, lipoxigenase, and lipid peroxidation induced in tomato leaf tissue by specific and non-specific elicitors from *Cladosporium fulvum*".— *Plant Physiol.* **90**, 867-875.
- Samuelsson, B.; Dahlen, S.E.; Lindgren, J.A.; Rouzer, C.A. y Serhan, C.N. (1987).— "Leucotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects".— *Science* **237**, 1171-1176.
- Satler, S.O. y Thimann, K.V. (1981).— "Le jasmonate de méthyle: Nouveau et puissant promoteur de la senescence de feuilles".— *C.R. Acad. Sci. Paris* **293**, 735-740.
- Schewe, T.; Rapoport, S.M. y Kühn, H. (1986).— "Enzymology and physiology of reticulocyte lipoxigenase: comparison with other lipoxigenases".— *Adv. Enzymol. Mol. Biol.* **58**, 191-272.
- Taylor, H.F. y Burden, R.S. (1973).— "Preparation and metabolism of 2-[¹⁴C]-*cis,trans*-xanthoxin".— *J. Exp. Bot.* **24**, 873-880.
- Tsurumi, S. y Asahi, Y. (1985).— "Identification of jasmonic acid in *Mimosa pudica* and its inhibitory effect in auxin- and light-induced opening of the pulvinules".— *Physiol. Plant.* **64**, 207-211.
- Ueda, J. y Kato, J. (1980).— "Isolation and identification of a senescence-promoting substance from wormwood (*Artemisia absinthium* L.)".— *Plant Physiol.* **66**, 246-249.
- Ueda, J. y Kato, J. (1981).— "Promotive effect of methyl jasmonate on leaf senescence in the light".— *Z. Pflanzenphysiol.* **103**, 357-359.
- Ueda, J. y Kato, J. (1982).— "Identification of jasmonic acid and abscisic acid as senescence-promoting substances from *Cleyera ochracea* D.C.".— *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1975-1976.
- Urbash, I. (1984).— "Produktion pflanzlicher C₆-wundgase und ihre Wirkung auf einige phytopathogene pilze".— *Z. Naturforsch* **39**, 1003-1007.
- Vick, B.A. y Zimmerman, D.C. (1982).— "Levels of oxygenated fatty acids in young corn and sunflower plants".— *Plant Physiol.* **69**, 1103-1108.
- Vick, B.A. y Zimmerman, D.C. (1986).— "Characterization of 12-oxo-phytodienoic acid reductase in corn: The jasmonic acid pathway".— *Plant Physiol.* **80**, 202-205.
- Vick, B.A. y Zimmerman, D.C. (1987).— "Oxidative Systems for Modification of Fatty Acids: The Lipoxigenase Pathway" en "The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise. Lipids: Structure and Functions", pp. 53-90.— P.K. Stumpf, Conn, E.E. (Eds.).— Academic Press, Inc., New York.
- Yamane, H.; Abe, H. y Takahashi, N. (1982).— "Jasmonic acid and methyl jasmonate in pollens and anthers of three *Camellia* species".— *Plant Cell Physiol.* **23**, 1125-1127.
- Yang, S.F. y Hoffman, N.E. (1984).— "Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants".— *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**, 155-189.
- Zamora, R.; Hidalgo, F.J. y Alaiz, M. (1991).— "Alteraciones bioquímicas de los lípidos en los alimentos vegetales. II. Metabolismo de los hidroperóxidos lipídicos".— *Grasas y Aceites* **42**, 230-238.
- Zimmerman, D.C. y Coudron, C.A. (1979).— "Identification of traumatin, a wound hormone, as 12-oxo-*trans*-10-dodecenoic acid".— *Plant Physiol.* **63**, 536-541.
- Zook, M.N. y Kuc, J.A. (1987).— "Differences in phytoalexin elicitation by *Phytophthora infestans* and *Helminthosporium carbonum* in potato".— *Phytopathology* **77**, 1217-1220.

(Recibido: Noviembre 1991)